

09/869230

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 28 FEB 2000	
WIPO	PCT

**Bescheinigung**

ep 99/10022  
4

Die MWG BIOTECH GmbH in Ebersberg/Deutschland hat eine Patentanmeldung  
unter der Bezeichnung

"Vorrichtung zur Durchführung von chemischen Reaktionen"

am 30. Dezember 1998 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprüng-  
lichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole  
B 01 J und C 07 H der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 7. Februar 2000

**Deutsches Patent- und Markenamt**

**Der Präsident**

Im Auftrag

Aktenzeichen: 198 60 821.7

Hiebinger

**Vorrichtung zur Durchführung  
von chemischen Reaktionen**

10

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Durchführung von chemischen Reaktionen. Insbesondere betrifft die Erfindung eine Vorrichtung zur Durchführung von chemischen Synthesen, vorzugsweise zum Synthetisieren von Oligonukleotiden.

15

Derartige Vorrichtungen sind bspw. aus der EP 0 164 206 B1 und der EP 0 181 491 B1 bekannt. Diese Vorrichtungen weisen jeweils mehrere stapelförmig übereinander angeordnete Reaktionsscheiben auf, in welchen jeweils drei oder vier als Kanäle dienende, durchgehende dünne Bohrungen und eine als Reaktionsgefäß dienende Bohrung mit zumindest bereichsweise größerem Querschnitt angeordnet sind. Die Reaktionsscheiben weisen eine mittige Bohrung auf, durch die sich ein als Verbindungselement dienender Bolzen erstreckt. An den Enden ist der Bolzen jeweils mit einem Gewinde versehen, auf welche je eine Mutter geschraubt ist, um die Reaktionsscheiben mit beträchtlicher Kraft zusammenzuhalten.

30

Die Reaktionsscheiben können um den Bolzen gedreht werden, wobei hierzu die Schraubverbindung zu lösen ist. Durch das Drehen der Reaktionsscheiben um den Bolzen werden die Kanäle in eine fluchtende Anordnung zu einer der Reaktionskammern gebracht, um eine bestimmte Reagenz dem Reaktionsgefäß zuzuführen.

35

Diese Vorrichtungen haben sich in der Praxis nicht bewährt, da die Anzahl der gleichzeitig ausführbaren Reaktionen begrenzt und bei jeder Änderung der einer bestimmten Reaktionskammer zuzuführenden Kombinationen von Reagenzien muß die Schraubverbindung ge-

löst werden und die Reaktionsscheiben müssen von Hand neu angeordnet werden.

~~Aus der EP 629 144 B1 geht eine Vorrichtung zur Durchführung~~

5 ~~zeitgleich oder sequentiell ablaufender chemischer Reaktionen~~

hervor, bei der in einer Vielzahl von Reaktionskammern gleichzeitig chemische Reaktionen ablaufen können, wie z.B. die Synthese von Oligonukleotiden. Hierzu werden anstelle von Scheiben Stäbe vorgesehen, die übereinanderliegend angeordnet und gegenseitig  
10 automatisch verschiebbar sind. In einem einzigen der Stäbe sind eine Vielzahl Reaktionskammern ausgebildet. Unter- und oberhalb der die Reaktionskammern aufweisenden Stäbe ist jeweils ein Stab mit einer einzigen Durchgangsbohrung vorgesehen, mit welchen jeweils eine bestimmte Reaktionskammer auf einer Seite mit einem  
15 ein Reagenz enthaltenden Gefäß und auf der anderen Seite mit einer Saugpumpe zum Ansaugen der Reagenz in die Reaktionskammer verbunden werden kann. Hierdurch ist es möglich, aus einer großen Anzahl von Reagenzien ein bestimmtes auszuwählen und in die Reaktionskammer zu saugen. Es ist insbesondere möglich, eine Vielzahl  
20 solcher Saugvorgänge mit kurzen zeitlichen Abständen auszuführen, wobei jeweils eine andere Reagenz und eine andere Reaktionskammer ausgewählt werden können. Hierdurch können in schneller Abfolge beliebige Kombinationen von Reagenzien in den Reaktionskammern kombiniert und zur chemischen Reaktion gebracht werden.

35 ein weiterer Vorteil dieser bekannten Vorrichtung liegt darin, daß die zur Chemikaliensteuerung notwendigen Totvolumen und die Reaktionskammern klein gehalten werden können, so daß der Verbrauch an Reagenzien, die insbesondere bei der Oligonukleotid-Synthese sehr teuer sind, gering ist. Bei weiteren bekannten Vorrichtungen werden Ventile zur Steuerung des Chemikalienflusses verwendet, die große Totvolumen besitzen, wodurch die Chemikalienausbeute gering ist.

35 Bei der aus der EP 0 629 144 B1 bekannten Vorrichtung werden die Stäbe mit einem hohen Druck aneinandergedrückt, damit sie im Bereich ihrer Kontaktflächen dicht sind und keine Reagenzien zwi-

schen die Stäbe kriechen. Der Hohe Druck verursacht beim gegenseitigen Verschieben der Stäbe jedoch einen erheblichen Verschleiß. Es ist zudem schwierig, derart langgestreckte Stäbe mit der notwendigen Präzision und Festigkeit herzustellen. Beim Härten solcher Stäbe besteht immer die Gefahr, daß sie sich verziehen. Die maximale Anzahl der Reaktionskammern ist durch die maximale, mit technisch und wirtschaftlich vertretbarem Aufwand, herstellbare Länge der Stäbe begrenzt.

10 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zur Durchführung von chemischen Reaktionen nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1 derart weiterzubilden, daß sie trotz einer größeren Anzahl von Reaktionskammern einfacher und kompakter ausgebildet werden kann.

15 Die Aufgabe wird durch eine Vorrichtung mit den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen angegeben.

20 Die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Durchführen von chemischen Reaktionen weist einen Reaktionsslider, in dem eine Vielzahl als Reaktionskammern dienende Durchgangsöffnungen ausgebildet sind, und zwei Wahlslider auf, die jeweils an einer Seite des Reaktionssliders, an der die Reaktionskammern münden, angeordnet sind.

25 Die Wahlslider sind jeweils mit zumindest einer durchgehenden Steueröffnung versehen, wobei die Wahlslider bezüglich des Reaktionssliders derart verlagerbar sind, daß sich deren Steueröffnungen in fluchtender Anordnung mit einer der Reaktionskammern des Reaktionssliders befinden, so daß eine durchgehende Verbindung z.B. zur Versorgung der jeweils ausgewählten Reaktionskammer mit einer vorbestimmten Reagenz geschaffen wird.

30 Die erfindungsgemäße Vorrichtung zeichnet sich dadurch aus, daß die Reaktionskammern des Reaktionssliders entlang einer Kreisbahn am Reaktionsslider angeordnet sind und der Reaktionsslider und die Wahlslider durch Verdrehen um eine gemeinsame Achse, die durch den Mittelpunkt der Kreisbahn geht, verlagerbar sind.

Diese kreisförmige Anordnung der Reaktionskammern am Reaktions-  
slider erlaubt eine sehr kompakte Ausbildung des Reaktionssliders  
mit einer Vielzahl von Reaktionskammern. Der Reaktionsslider kann

5 ~~hierdurch plattenförmig und insbesondere in der Form einer~~  
Ringscheibe gefertigt werden, wodurch der Fertigungsaufwand im  
Vergleich zu den aus der EP 0 629 144 B1 bekannten Stäben erheb-  
lich vermindert werden kann. Dies beruht unter anderem darauf,  
daß Platten wesentlich einfacher mit planen Flächen als Stäbe  
10 ausgebildet werden können, welche sich zudem beim Härten oftmals  
verziehen. Diese kreisförmige Anordnung der Reaktionskammern er-  
laubt somit ein einfacheres Herstellen planer und damit flüssig-  
keitsdichter Kontaktflächen.

15 Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist eine Einrichtung zum  
Beaufschlagen der Slider mit einer Kraft vorgesehen, um die Kon-  
taktflächen der Slider abzudichten. Mit dieser Einrichtung können  
die Slider in einer bestimmten Stellung mit einer vorbestimmten  
Kraft von z.B. 100 N aneinander gepreßt werden, wobei die Kraft  
20 zum Drehen der Slider vermindert oder gelöst wird, so daß der  
Verschleiß gering gehalten wird und über einen langen Zeitraum  
die Dichtheit an den Kontaktflächen der Slider gewährleistet ist.

Nach einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist eine An-  
25 triebseinheit mit einem zylinderförmigen feststehenden Antriebs-  
gehäuse und zwei konzentrisch und ineinander angeordneten Hohl-  
wellen vorgesehen, auf welche drehfest der Reaktionsslider bzw.  
einer der Wahlslider aufgesetzt werden können. Diese von den Sli-  
dern getrennte Ausbildung der Antriebseinheit erlaubt ein einfa-  
ches und schnelles Austauschen der Slider, die vorzugsweise mit-  
30 tels einer Steckverbindung drehfest mit der Antriebseinheit ver-  
bunden werden können. Hierdurch ist es möglich, z.B. die Anzahl  
der Reaktionskammern durch Austauschen des Reaktionssliders zu  
verändern und auf die jeweiligen Anforderungen anzupassen.

35 Die Erfindung wird nachfolgend anhand der Zeichnungen beispiel-  
haft näher erläutert. Die Zeichnungen zeigen schematisch:

Fig. 1 mehrere Slider der erfindungsgemäßen Vorrichtung in einer teilweise aufgebrochenen Explosionsdarstellung,

5 Fig. 2 die Slider aus Fig. 1 in zusammengesetzten Zustand in teilweise aufgebrochener, perspektivischer Darstellung, und

10 Fig. 3 die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Durchführung von chemischen Reaktionen in einer Querschnittsdarstellung.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung 1 zur Durchführung von chemischen Reaktionen weist als zentrales Element einen Reaktionsslider 2 auf. Der Reaktionsslider 2 ist als Ringscheibe aus einer 15 Stahlplatte mit in der Draufsicht kreisförmiger Form ausgebildet. Am Umfangsbereich des Reaktionssliders sind entlang einer Kreisbahn mit Radius  $r$  eine Vielzahl von als Reaktionskammern 3 dienende Durchgangslöcher eingebracht. Im dargestellten Ausführungsbeispiel weist der Reaktionsslider 2 insgesamt 22 Reaktionskammern 3 auf. Die Reaktionskammern weisen einen Reaktionsbereich 4 20 mit größerem Innendurchmesser und einen unteren Bereich 5 mit kleinerem Innendurchmesser auf. Soll die erfindungsgemäße Vorrichtung für die Oligonukleotid-Synthese eingesetzt werden, so werden in den Reaktionsbereichen an sich bekannte Fritten zur 25 Aufnahme der Reagenzien eingesetzt.

Zusätzlich zu den Reaktionskammern 3 sind an der Kreisbahn 2 Durchgangsöffnungen eingebracht, die durchgehend einen schmalen Innendurchmesser aufweisen und als Spülkanäle 6 dienen. Die bei- 30 den Spülkanäle 6 sind diametral auf der Kreisbahn angeordnet und unterteilen die Reaktionskammern 3 in zwei Bereiche mit je elf Reaktionskammern 3. Der Reaktionsslider 2 ist mit einer zentralen Öffnung 7 versehen. Benachbart zur zentralen Öffnung 7 sind drei mit gleichem Winkelabstand um den Mittelpunkt des Reaktionssli- 35 ders 2 angeordnete durchgehende Mitnehmeröffnungen 8 eingebracht.

Der Reaktionsslider 2 ist in der erfindungsgemäßen Vorrichtung horizontal angeordnet, wobei angrenzend an seiner oberen und unteren Seite jeweils ein oberer und unterer Wahlslider 9, 10 vorgesehen sind. Beim vorliegenden Ausführungsbeispiel sind der obere und untere Wahlslider 9, 10 aus identischen Ringscheiben ausgebildet, die aus einer Stahlplatte gefertigt sind. Die Wahlslider 9, 10 weisen eine in der Draufsicht kreisförmige zentrale Öffnung 11 auf, die so groß bemessen ist, daß sie die Mitnehmeröffnungen 8 des Reaktionssliders 2 umfaßt. Angrenzend an der zentralen Öffnung 11 sind drei im gleichen Winkelabstand angeordnete Mitnehmeröffnungen 12 in die Wahlslider 9, 10 eingebracht. Die Wahlslider 9, 10 weisen einen größeren Durchmesser als der Reaktionsslider 2 auf, wobei an dem über den Reaktionsslider 2 vorstehenden Randbereich drei Mitnehmerstifte 13 angeordnet sind, die die beiden Wahlslider 9, 10 miteinander verbinden. Die Mitnehmerstifte 13 sind an dem unteren Wahlslider 10 befestigt und greifen in entsprechend angeordnete Mitnehmeröffnungen 14 am oberen Wahlslider 9 ein, so daß die beiden Wahlslider 9, 10 drehfest miteinander gekoppelt sind. An den Wahlslider 9, 10 ist jeweils eine vertikal durchgehende Steueröffnung 15 eingebracht. Die beiden Steueröffnungen 15 der beiden Wahlslider 9, 10 sind vertikal übereinander fluchtend angeordnet. Die Steueröffnungen 15 sind zudem mit dem Radius  $r$  der Kreisbahn, auf welcher die Reaktionskammern 3 des Reaktionssliders 2 angeordnet sind, vom Mittelpunkt des Wahlsliders 9, 10 beabstandet, so daß die Steueröffnungen 15 bei einer Umdrehung der Wahlslider 9, 10 die gleiche Kreisbahn wie die Reaktionskammern 3 beschreiben.

Hierdurch kann durch Drehen der Wahlslider 9, 10 bezüglich des Reaktionssliders 2 um die gemeinsame vertikale, mittige Achse 16 das Paar von Steueröffnungen 15 mit jeweils einer der Reaktionskammern 3 oder einem der Spülkanäle 6 in fluchtende Übereinstimmung gebracht werden, so daß jeweils ein sich durch die beiden Wahlslider 9, 10 und den Reaktionsslider 2 hindurch erstreckender Kanal vorliegt.



Die beiden Wahlslider 9, 10 und der dazwischen angeordnete Reaktionsslider 2 sind auf einem Chemikalien-Slider 17 angeordnet.

Der Chemikalien-Slider 17 ist ein Stahlring mit rechteckigem, bspw. quadratischem Querschnitt. Der Chemikalien-Slider 17 ist

5 konzentrisch zur gemeinsamen vertikalen Achse 16 angeordnet und

weist eine Vielzahl von Durchgangsöffnungen 18 auf, die entlang einer Kreisbahn mit dem Radius  $r$  um die gemeinsame Achse 16 angeordnet sind. Die Durchgangsöffnungen 18 sind auf der Kreisbahn vorzugsweise mit gleichem Abstand voneinander angeordnet, wobei

10 sich der Abstand zwischen zwei benachbarten Durchgangsöffnungen 18 von dem Abstand zwischen zwei benachbarten Reaktionskammern 3 des Reaktionssliders 2 unterscheiden kann. An der vom unteren

Wahlslider 10 abgewandten Seite des Chemikalien-Sliders 17 sind an den Durchgangsöffnungen Leitungen 19 z. B. in Form von Schläu-

15 chen angeschlossen, die jeweils zu einem Chemikaliengefäß 20 führen, in dem sich eine vorbestimmte Reagenz befindet. Der Chemika-

lien-Slider 17 ist in der erfindungsgemäßen Vorrichtung feststehend angeordnet und zum Drehen der beiden Wahlslider 9, 10 und

20 zum Drehen des Reaktionssliders 2 ist jeweils eine Antriebseinrichtung (nicht dargestellt) vorgesehen, so daß die beiden Wahl-

lider 9, 10 unabhängig vom Reaktionsslider 2 um die gemeinsame Achse 16 zumindest eine volle Umdrehung ( $360^\circ$ ) gedreht werden

können. Die Steueröffnung 15 des oberen Wahlsliders 9 steht über eine weitere Leitung (nicht dargestellt) mit einer Dosierpumpe

25 (nicht dargestellt) in Verbindung.

Nachfolgend wird der Betrieb der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Durchführung von chemischen Reaktionen anhand der in Fig. 2 und 3 gezeigten schematischen Darstellung näher erläutert.

30

In den einzelnen Chemikaliengefäßen 20 befinden sich unterschiedliche Reagenzien, womit jeder Durchgangsöffnung 18 des Chemikalien-Sliders 17 eine bestimmte Reagenz zugeordnet ist. Durch Anordnen der Steueröffnung 15 des unteren Wahlsliders 10 unmittelbar

35 über einer bestimmten Durchgangsöffnung 18 des Chemikalien-Sliders 17 kann die der Durchgangsöffnung 18 zugeordnete Reagenz ausgewählt werden. Der Reaktionsslider 2 wird mit einer der Reak-



tionskammern 3, der eine bestimmte Reagenz zugeführt werden soll, unmittelbar über der Steueröffnung 15 des unteren Wahlsliders 9 angeordnet. Da die Steueröffnung 15 des oberen Wahlsliders 9 sich in vertikal geradliniger Flucht über der Steueröffnung 15 des un-

5 teren Wahlsliders 10 befindet, wird durch diese Anordnung der vier Slider 2, 9, 10, 17 eine durchgehende Verbindung von dem einem bestimmten Chemikaliengefäß 20, durch den Chemikalien-Slider 17, den unteren Wahlslider 10, den Reaktionsslider 2 und den oberen Wahlslider 9 geschaffen (Fig. 2, linker Teilschnitt), die zur 10 Dosierpumpe führt. Durch Betätigen der Dosierpumpe wird die Reagenz aus dem Chemikaliengefäß 20 durch die Durchgangsöffnung 18 des Chemikalien-Sliders 17 und die Steueröffnung 15 des unteren Wahlsliders 10 in die eine vorbestimmte Reaktionskammer 3 gesaugt.

15 Befindet sich die gewünschte Menge einer Reagenz in der Reaktionskammer 3, so wird der Reaktionsslider bzgl. der beiden Wahlslider 9, 10 gedreht, wodurch diese eine Reaktionskammer 3 von der Steueröffnung 15 des unteren Wahlsliders 10 entfernt wird und 20 die Reaktionskammer 3 an beiden Enden durch die Wahlslider 9, 10 verschlossen ist.

Der Vorgang des Ansaugens einer bestimmten Reagenz in eine bestimmte Reaktionskammer 3 kann beliebig wiederholt werden und es 25 können dabei die Reagenzien und/oder die Reaktionskammern 3 in einer beliebigen Reihenfolge ausgetauscht werden, so daß jeder Reaktionskammer zu einem vorbestimmten Zeitpunkt eine bestimmte Menge einer vorbestimmten Reagenz zugeführt werden kann. Da die unterschiedlichen Drehpositionen der Slider in wenigen Sekunden- 30 bruchteilen eingestellt werden können, können die einzelnen Reaktionskammern 3 quasi gleichzeitig mit gleicher oder unterschiedlicher Abfolge von Reagenzien versorgt werden. In den einzelnen Reaktionskammern 3 lassen sich somit gezielt bestimmte chemische Reaktionen erzeugen.

Zum Reinigen der Steueröffnungen 15 werden diese mit einem Spülkanal 6 in fluchtende Übereinstimmung gebracht und dann mit einem Spülmittel, wie z.B. destilliertem Wasser, gespült.

5 Vorzugsweise sind die Slider, insbesondere der Reaktionsslider 2 auf eine für die chemischen Reaktionen geeignete Temperatur temperiert.

10 Nachfolgend wird eine bereits als Prototyp vorliegende erfindungsgemäße Vorrichtung zur Durchführung chemischer Reaktionen anhand von Fig. 3 näher erläutert, mit welcher hervorragende Ergebnisse bei der Oligonukleotid-Synthese erzielt worden sind.

15 Diese Vorrichtung weist eine aus einem Reaktionsslider 2, einem oberen und unteren Wahlslider 9, 10 und einem Chemikalien-Slider 17 bestehende Einheit auf, die im wesentlichen genauso wie die in Fig. 2 dargestellte Einheit ausgebildet ist. Lediglich im Chemikalien-Slider 17 sind die Anschlußöffnungen 21 zum Anschließen der zu den Chemikaliengefäßen führenden Leitungen nicht nach unten, sondern radial nach außen geführt, so daß sie an der Mantelfläche des Chemikalien-Sliders 17 münden.

25 Diese aus den Slidern 2, 9, 10 und 17 bestehende Einheit ist auf einer Antriebseinheit 22 angeordnet. Die Antriebseinheit 22 weist ein etwa zylinderförmiges feststehendes Antriebsgehäuse 23 und zwei konzentrisch und ineinander angeordnete Hohlwellen 24, 25 auf. Die zum Antriebsgehäuse 23 benachbarte Hohlwelle 24 ist gegenüber dem Antriebsgehäuse 23 mittels zweier Lager 26 drehbar gelagert. Zwischen den beiden Lagern 26 ist eine Abstandsbuchse 30 27 angeordnet, um die Lager 26 auf einem vorbestimmten Abstand zu halten. Die innerste Hohlwelle 25 ist gegenüber der Hohlwelle 24 wiederum durch zwei weitere Lager 28 drehbar gelagert.

35 An der oberen Stirnfläche des Antriebsgehäuses 23 sind vertikal nach oben vorstehende Stifte 29 angebracht, die in korrespondierende Sacklöcher 30 des Chemikalien-Sliders 17 eingreifen.

Die obere Stirnfläche der innersten Hohlwelle 25 ist mit vertikal nach oben vorstehenden Mitnehmerstiften 31 versehen, die in die Mitnehmeröffnungen 8 (Fig. 1, 3) des Reaktionssliders 2 eingreifen. In entsprechender Weise sind an der zum Antriebsgehäuse 23 benachbarten Hohlwelle 24 an deren oberen Stirnfläche Mitnehmerstifte 32 vorgesehen, die in die Mitnehmeröffnung 12 des unteren Wahlsliders 10 eingreifen.

Der Chemikalien-Slider 17, der untere Wahlslider 10 und der Reaktionsslider 2 sind somit mittels einer lösbaren Steckverbindung drehfest mit dem Antriebsgehäuse 23 bzw. den beiden Hohlwellen 24, 25 verbunden. Am unteren Ende der beiden Hohlwellen 24, 25 sind an diese radial nach außen vorstehende Zahnkränze 33, 34 vorgesehen, an welchen jeweils über einen Zahnriemen verbunden ein Schrittmotor (nicht dargestellt) angreifen kann. Das Antriebsgehäuse 23 ist an seinem unteren Bereich drehfest mit einer Grundplatte 35 verbunden, wobei die gesamte Antriebseinheit 22 sich durch eine in der Grundplatte 35 ausgebildete Öffnung 36 hindurch erstreckt.

Am oberen Wahlslider 9 liegt eine Druckplatte 37 auf, die mit dem oberen Wahlslider 9 mittels einer Schraubverbindung 38 drehfest verbunden ist. Die Druckplatte 37 ist mit einer zentralen Öffnung 37a versehen, durch die die gemeinsame, vertikale Achse 16 der Slider 2, 9, 10, 17 verläuft. Die innerste Hohlwelle 25 ist zudem konzentrisch zu der Achse 16 angeordnet, so daß von der Druckplatte 37 bis zum unteren Endbereich der Antriebseinheit 22 ein Durchgang ausgebildet ist. In diesem Durchgang ist eine Zugstange 39 angeordnet, die nach oben über die Druckplatte 37 vorsteht und nach unten an der Antriebseinheit 22 ein Stück vorsteht. An ihrem oberen Ende ist die Zugstange 39 mit einem Druckkolben 40 verbunden, der auf der Druckplatte 37 von oben aufliegt, wobei zwischen dem Druckkolben 40 und der Druckplatte 37 ein Lager 41 eingebracht ist, so daß die Druckplatte 37 bzgl. des Druckkolbens 40 gedreht werden kann. Am unteren Ende der Zugstange 39 ist ein Kipphebel 42 angelenkt, der sich etwa parallel zur Grundplatte 35 erstreckt und an seiner Längsmittle an einem Kippgelenk 43 drehbar

befestigt ist. Das Kippgelenk 43 ist an einem sich von der Grundplatte 35 nach unten erstreckenden Steg 44 angeordnet.

An dem von der Zugstange 39 entfernten Ende des Kippgelenkes 43 ist mittels eines Zwischenlenkers 45 eine vertikal nach oben stehende Ankerstange 46 gelenkig befestigt. Die Ankerstange 46 verläuft durch eine weitere Öffnung 47 der Grundplatte 35 und durch einen Elektromagneten, der in einem Magnetgehäuse 48 angeordnet ist. Die Ankerstange 46 steht mit ihrem oberen Ende am Magnetgehäuse 48 vor. Im Magnetgehäuse 48 ist ein zylinderrohrförmiger Anker vorgesehen, durch den sich die Ankerstange 46 hindurch erstreckt. Der Anker ist fest mit der Ankerstange 46 verbunden. Eine auf Druck belastete Spiralfeder 50 stützt sich an der Oberseite des Magnetgehäuses 48 ab und ist mit dem oberen Ende der Ankerstange 46 verbunden.

Im stromlosen Zustand des Elektromagneten 48 befindet sich der Anker in einer nach oben geschobenen Stellung, so daß die Ankerstange 46 durch die Wirkung der Spiralfeder 50 nach oben gedrückt wird. Die von der Ankerstange 46 auf den Kipphebel 42 ausgeübte Kraft wird von diesem auf eine nach unten wirkende Zugkraft auf die Zugstange 39 übertragen, welche wiederum den Druckkolben 40 nach unten gegen die Druckplatte 37 drückt. Die Slider 2, 9, 10 und 17 werden somit zwischen dem Antriebsgehäuse 23 und der Druckplatte 37 mit einer vorbestimmten Kraft zusammengedrückt, die z.B. 100 Newton betragen kann.

Wird der Elektromagnet 48 unter Strom geschaltet, so wird der Anker in den Elektromagneten gezogen, wodurch sich die Ankerstange 46 absenkt und die Zugstange 39 anhebt und der Druck auf die Slider 2, 9, 10, 17 vermindert oder auch völlig aufgehoben werden kann.

Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann während des Verdrehens der Wahlslider 9, 10 bzw. des Reaktionssliders 2 der an den Kontaktflächen zwischen den Slidern wirkende Druck somit kurzzeitig vermindert bzw. vollständig aufgehoben werden, wodurch der Ver-

schleiß beim Drehen der Slider wesentlich geringer als bei herkömmlich automatisch arbeitenden Vorrichtungen ist. Zudem wird während des Ansaugens von Reagenzien durch das Anlegen des Druckes die notwendige Dichtheit sichergestellt.

5

Zur weiteren Vermeidung des Verschleißes der Slider können diese mit einer PFD-Beschichtung oder einer Keramik-Beschichtung versehen sein. Anstelle von Slidern aus Stahl sind auch Slider aus Kunststoff, Keramik- oder Glaswerkstoffen, insbesondere Materialien mit geringem Gleitwiderstand und hoher Chemikalienbeständigkeit, wie z.B. Teflon möglich.

Die Erfindung ist oben anhand eines Ausführungsbeispiels mit 22 Reaktionskammern erläutert worden. Vorzugsweise sind jedoch 24, 48 oder 96 Reaktionskammern vorgesehen, da die erzeugten Reaktionsprodukte in der Regel in Gefäßen einer Mikrotiterplatte abgelegt werden. Die gebräuchlichen Mikrotiterplatten besitzen 96 Reaktionsgefäße, so daß bei 24, 48 oder 96 Reaktionskammern mit einem, zwei oder vier Synthesevorgängen alle Gefäße einer Mikrotiterplatte mit Syntheseprodukten gefüllt werden können.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist eine Anzeigeeinrichtung mit jeweils einem Anzeigefeld für jede Reaktionskammer vorgesehen. Auf diesen Anzeigefeldern wird jeweils ein für die Qualität des Synthetisierverfahrens signifikanter Wert angezeigt.

Hierzu ist ein optischer Sensor 51 vorgesehen, der möglichst nahe an den Reaktionskammern 3 bzw. dem oberen Wahlslider 9 angeordnet ist. Im vorliegenden Ausführungsbeispiel ist der optische Sensor 51 unmittelbar an einer oberen Gehäuseabdeckung angeordnet. Es ist jedoch auch möglich, den optischen Sensor in den oberen Wahlslider 9 benachbart zur Steueröffnung 15 zu integrieren. Vom optischen Sensor 51 führt eine Leitung 52 zu der als Saugpumpe ausgebildeten Dosierpumpe (nicht dargestellt). Mit dem optischen Sensor 51 wird die Lichtdurchlässigkeit (Trübheit) des aus den



Reaktionskammern 3 zwischen jedem einzelnen Teilarbeitsschritt abgezogenen Zwischenprodukt bzw. Endprodukt detektiert.

Durch das Anordnen des optischen Sensors 51 nahe am Wahlslider 9 wird ein schnelles Ansprechverhalten der Lichtintensitätsmessung erzielt, da die in den Reaktionsgefäßen erzeugten Zwischen- und Endprodukte nur über eine kurze Strecke befördert werden müssen, bis sie vom Sensor 51 detektiert werden können. Darüber hinaus wird bei dieser Anordnung des Sensors 51 Streulicht sicher vom Detektionsbereich abgeschirmt.

Bei einer korrekt ablaufenden Oligonukleotidsynthese trüben sich die Zwischenprodukte durch eine Erhöhung des DMT-Anteils (DMT = Dimethyl) allmählich mit jedem Reaktionsschritt ein. Bei bekannten Oligonukleotidsynthesevorrichtungen wird die bei jedem Teilschritt erhaltene Lichtintensität als Zahlenwert ausgegeben. Hierdurch wird bei mehreren Reaktionskammern eine entsprechende Anzahl von Zahlenkolonnen erzeugt, weshalb sich bereits nach einigen Teilarbeitsschritten eine unübersichtliche Anzahl von Zahlenwerten ergibt.

Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung wird diese große Anzahl von Zahlenwerten vermieden, indem für jede Reaktionskammer lediglich ein für die Qualität der ablaufenden Oligonukleotidsynthese signifikanter Wert dargestellt wird.

Dieser für die Qualität der ablaufenden Oligonukleotidsynthese signifikante Wert ist z.B. der Korrelationskoeffizient R der detektierten Lichtintensitäten.

Der Korrelationskoeffizient R wird gemäß folgender Formel berechnet:

$$R = \frac{m\sigma_i}{\sigma_s}$$

wobei  $s$  die bei einer Messung detektierte Lichtintensität ist und die einzelnen Messungen mit dem Zähler  $i$  gezählt werden, und  $\sigma_s$  die Standardabweichung der Meßwerte  $s$ ,  $\sigma_i$  die Standardabweichung des Zählers  $i$  und  $m$  die Steigung der Regressionsgeraden in einem

- 5 Koordinatensystem ist, bei dem die Lichtintensität auf der Ordinate und der Zähler auf der Abszisse aufgetragen ist.

Die Standardabweichung  $\sigma_s$ , die Standardabweichung  $\sigma_i$  und die Steigung  $m$  werden nach folgenden Formeln berechnet:

10

$$\sigma_s = \sqrt{\frac{\sum_N s^2 - \frac{\left(\sum_N s\right)^2}{N}}{N-1}}$$

$$\sigma_i = \sqrt{\frac{\sum_N i^2 - \frac{\left(\sum_N i\right)^2}{N}}{N-1}}$$

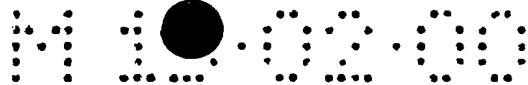
$$m = \frac{\sum_N si - \frac{\sum_N s \sum_N i}{N}}{\sum_N i^2 - \frac{\left(\sum_N i\right)^2}{N}}$$

15

wobei  $N$  die Gesamtzahl der Meßwerte ist.

In dem oben beschriebenen Koordinatensystem liegen bei einem korrekten Verlauf der Oligonukleotidsynthese die Lichtintensitätswerte durch die allmähliche Eintrübung etwa auf einer leicht abfallenden Geraden. Lediglich bei einem Fehler bei der Oligonu-

20



kleotidsynthese ergeben sich Lichtintensitätswerte, die von der Geraden deutlich abweichen. Der Korrelationskoeffizient  $R$  gibt an, wie exakt die einzelnen Meßwerte auf der Geraden liegen, wobei der Korrelationskoeffizient  $R$  Werte zwischen  $-1$  und  $+1$  annehmen kann.

Ist der Korrelationskoeffizient gleich  $0$ , so kann keine Gerade durch die Meßwerte gelegt werden, wohingegen bei Werten von  $-1$  oder  $+1$  des Korrelationskoeffizienten  $R$  die Meßwerte auf exakt einer Geraden liegen. In den einzelnen Anzeigefeldern werden deshalb die Absolutwerte  $|R|$  der jeweils einer Reaktionskammer 3 zugeordneten Korrelationskoeffizienten  $R$  dargestellt, so daß ein Bediener bei einer deutlichen Abweichung von  $1$  sofort erkennt, daß die Synthese in der jeweiligen Reaktionskammer nicht korrekt abläuft, ohne daß er hierzu eine Zahlenkolonne oder eine große Menge an Meßwerten überwachen muß.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden die jeweils letzten Meßwerte stärker gewichtet als die übrigen Meßwerte. Beispielsweise wird bei der Berechnung des Korrelationskoeffizienten  $R$  das Zahlenpaar (Meßwert  $s_i$ , Zähler  $i$ ) so stark gewichtet wie alle anderen Meßwerte zusammen, d.h., daß das Zahlenpaar des letzten Meßwertes  $s_i$  genauso oft in die Berechnung eingeht, wie andere Meßwerte vorhanden sind, nämlich  $i-1$  mal. Wenn der nächste Meßwert  $s_{i+1}$  erhalten wird, wird die erhöhte Wichtung des Meßwertes  $s_i$  aufgehoben und der neue Meßwert  $s_{i+1}$  wird  $i$  mal gewichtet.

Durch diese höhere Wichtung des jeweils letzten Meßwertes spricht der derart modifizierte Korrelationskoeffizient schneller auf eine Abweichung von der Geraden an. Dies erlaubt dem Bediener eine schnelle Erfassung und Reaktion bei Fehlern.

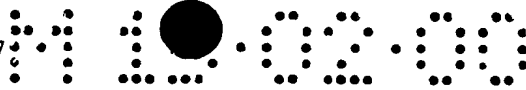
Bei einer bevorzugten Anordnung sind mehrere erfindungsgemäße Vorrichtungen, z.B. 3 bis 10, und vorzugsweise 6 zu einer Einheit zusammengefaßt und mit einer gemeinsamen Versorgung für Reagenzien, Gas und elektrische Energie versehen. Die die Reagenzien beinhaltenden Vorratsgefäße weisen jeweils einen Füllstandsmesser auf, so daß deren Füllungsgrad automatisch von einer Füll-





standsüberwachungseinrichtung überwacht werden kann. Bei einem geringen Füllungsgrad wird von der Füllstandsüberwachungseinrichtung dem Bediener ein Signal gegeben, daß die entsprechende Reagenz nachgefüllt bzw. das entsprechende Vorratsgefäß ausgetauscht werden muß. Diese Füllstandsüberwachungseinrichtung erlaubt einen teilautomatischen und kontinuierlichen Betrieb dieser aus mehreren Synthesevorrichtungen bestehenden Einheit.

Bei dieser Anordnung werden die Reagenzien mit einem Schutzgas in den Vorratsgefäßen unter Druck gesetzt. Dieses Schutzgas besitzt zwei Funktionen. Es soll einen Kontakt der Reagenzien mit Feuchtigkeit enthaltender Luft verhindern, denn durch den Kontakt mit feuchter Luft könnten unerwünschte Reaktionen eintreten und die Reagenzien in ihrer Funktion beeinträchtigt werden. Zudem wird durch das Schutzgas ein Druck ausgeübt, der die Förderung der Reagenzien zu den Reaktionskammern 3 unterstützt. Hierdurch kann beim Absaugen der Reagenzien aus den Reaktionskammern 3 die Saugpumpe mit einem geringeren Unterdruck arbeiten, wodurch die auch Reagenzien mit niedrigem Dampfdruck verwendet werden können.



DE-1627

30. Dezember 1998

5 MWG-Biotech GmbH

### Ansprüche

10

1. Vorrichtung zum Durchführen von chemischen Reaktionen, mit  
- einem Reaktionsslider (2), in dem eine Vielzahl als Reaktions-  
kammern (3) dienende Durchgangsöffnungen ausgebildet sind,  
15 - zwei Wahlslidern (9, 10), die jeweils an einer Seite des Reak-  
tionssliders (2), an der die Reaktionskammern (3) münden, ange-  
ordnet sind und die jeweils zumindest eine durchgehende Steuer-  
öffnung (15) aufweisen, wobei die Wahlslider (9, 10) bezüglich  
des Reaktionssliders (2) derart verlagerbar sind, daß sich deren  
20 Steueröffnungen (15) in fluchtender Anordnung mit einer der Reak-  
tionskammern (3) des Reaktionssliders (2) befinden, so daß eine  
durchgehende Verbindung zur Versorgung der Reaktionskammer (3)  
mit einer vorbestimmten Reagenz eingestellt werden kann,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
25 daß die Reaktionskammern (3) des Reaktionssliders (2) entlang ei-  
ner Kreisbahn am Reaktionsslider (2) angeordnet sind und der Re-  
aktionsslider (2) und die Wahlslider (9, 10) durch Drehen um eine  
gemeinsame Achse (16), die durch den Mittelpunkt der Kreisbahn  
geht, verlagerbar sind.

30

2. Vorrichtung nach Anspruch 1,  
**dadurch gekennzeichnet,**  
daß der Reaktionsslider (2) plattenförmig, insbesondere in Form  
einer Ringscheibe, ausgebildet ist.

35

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,  
**dadurch gekennzeichnet,**

daß die Wahlslider (9, 10) plattenförmig, insbesondere in Form einer Ringscheibe, ausgebildet sind.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,

5 **dadurch gekennzeichnet,**

daß die beiden Wahlslider (9, 10) drehfest miteinander gekoppelt sind, wobei die Steueröffnungen (15) der Wahlslider (9, 10) zueinander fluchtend angeordnet sind.

10 5. Vorrichtung nach Anspruch 4,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß die Wahlslider (9, 10) mittels Mitnehmerstifte (13) miteinander gekoppelt sind.

15 6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß ein Chemikalien-Slider (17) angrenzend an einem der Wahlslider (9, 10) an der vom Reaktionsslider (2) abgewandten Seite angeordnet ist, und der Chemikalien-Slider (17) mit entlang einer

20 Kreisbahn angeordneter Durchgangsöffnungen (18) versehen ist, wobei die Kreisbahn der Kreisbahn entspricht, die die Steueröffnungen der Wahlslider (9, 10) bei einer Umdrehung beschreiben.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,

25 **dadurch gekennzeichnet,**

daß die Wahlslider (9, 10) und der Reaktionsslider (2) voneinander unabhängig antreibbar sind.

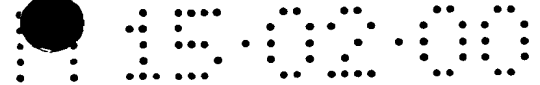
8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,

30 **gekennzeichnet durch**

eine Einrichtung zum Beaufschlagen der Slider (2, 9, 10, 17) mit einer Kraft, um die Kontaktflächen der Slider (2, 9, 10, 17) abzudichten.

35 9. Vorrichtung nach Anspruch 8,

**dadurch gekennzeichnet,**



daß die Einrichtung zum Beaufschlagen der Slider (2, 9, 10, 17) elektrisch ansteuerbar ist.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9,

5 **dadurch gekennzeichnet,**

daß die Einrichtung zum Beaufschlagen der Slider ein kombinierter Feder-/Magnetmechanismus ist, der mit einem Druckkolben (40) gegen eine Druckplatte (37) drückt, wobei zwischen der Druckplatte (37) und einem feststehenden Antriebsgehäuse (23) die Slider (2, 10 9, 10, 17) angeordnet sind.

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 8 bis 10,

**dadurch gekennzeichnet,**

15 daß am Druckkolben (40) eine Zugstange (39) angreift, die sich durch mittige Öffnungen in den Slidern (2, 9, 10, 17) erstreckt, so daß eine von der Einrichtung zum Beaufschlagen der Slider auf die Zugstange (39) ausgeübte Zugkraft in eine auf die Druckplatte (37) wirkende Druckkraft umgesetzt wird.

20 12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,

**gekennzeichnet durch,**

eine Antriebseinheit (22) mit einem zylinderförmigen feststehenden Antriebsgehäuse (23) und zwei konzentrisch und ineinander angeordnete Hohlwellen (24, 25), auf welche drehfest der Reaktions- 25 onsslider (2) bzw. einer der Wahlslder (9, 10) aufgesetzt werden können.

13. Vorrichtung nach Anspruch 12,

**dadurch gekennzeichnet,**

30 daß sich durch die Hohlwellen (24, 25) die Zugstange (39) erstreckt und an dem vom Druckkolben (40) entfernten Ende mit einem Kipphebel (42) gelenkig verbunden ist, der an seinem anderen Ende gelenkig mit der Einrichtung zum Beaufschlagen der Slider (2, 9, 10, 17) verbunden ist.

35

14. Vorrichtung nach Anspruch 13,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß das Antriebsgehäuse (23) und der Feder/Magnetmechanismus auf einer Grundplatte montiert sind.

15. ~~Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,~~

~~5~~ **dadurch gekennzeichnet,**

daß eine Anzeigeeinrichtung mit jeweils einem Anzeigefeld für jede Reaktionskammer (3) vorgesehen ist, wobei auf den einzelnen Anzeigefeldern jeweils ein für die Qualität der in der jeweiligen Reaktionskammer (3) ablaufenden Reaktion signifikanter Wert angezeigt wird.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß ein optischer Sensor (51) zum Detektieren der Lichtdurchlässigkeit der in den Reaktionskammern erzeugten Zwischen- und Endprodukte vorgesehen ist.

17. Vorrichtung nach Anspruch 16,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der optische Sensor (51) unmittelbar angrenzend an einem der Wahlslider (9, 10) angeordnet ist.

18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 16 bis 17,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der für die Reaktionen signifikante Wert der Korrelationskoeffizient (R) von Meßwerten einer Lichtdurchlässigkeitsmessung an den Zwischen- und Endprodukten ist.

19. Vorrichtung nach Anspruch 18,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der für die Reaktionen signifikante Wert der Absolutwert des Korrelationskoeffizienten (R) von Meßwerten der Lichtdurchlässigkeitsmessung an den Zwischen- und Endprodukten ist.

20. Vorrichtung nach Anspruch 18 oder 19,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß der jeweils letzte Meßwert bei der Berechnung des Korrelationswertes stärker als die übrigen Meßwerte gewichtet wird.

~~21. Verfahren zum Ansteuern einer Vorrichtung nach den Ansprü-~~  
~~5 chen 8 bis 14,~~

**dadurch gekennzeichnet,**

daß die Slider in einer bestimmten Stellung aneinander mit einer bestimmten Kraft gedrückt werden, und

10 die Druckkraft beim Verlagern der Slider vermindert bzw. vollständig aufgehoben wird.

22. Anordnung mit mehreren nach einem der Ansprüche 1 bis 20 ausgebildeten Vorrichtungen,

**dadurch gekennzeichnet,**

15 daß eine gemeinsame Versorgungseinheit für Reagenzien mit mehreren Vorratsgefäßen vorgesehen ist, wobei die Vorratsgefäße mit einem Füllstandsmesser versehen sind, und eine Füllstandsüberwachungseinrichtung den Füllungsgrad der einzelnen Vorratsgefäße automatisch überwacht.

20

23. Anordnung nach Anspruch 22,

**dadurch gekennzeichnet,**

daß die gemeinsame Versorgungseinheit auch zur Versorgung von Gas und elektrischer Energie ausgebildet ist.

25

450200

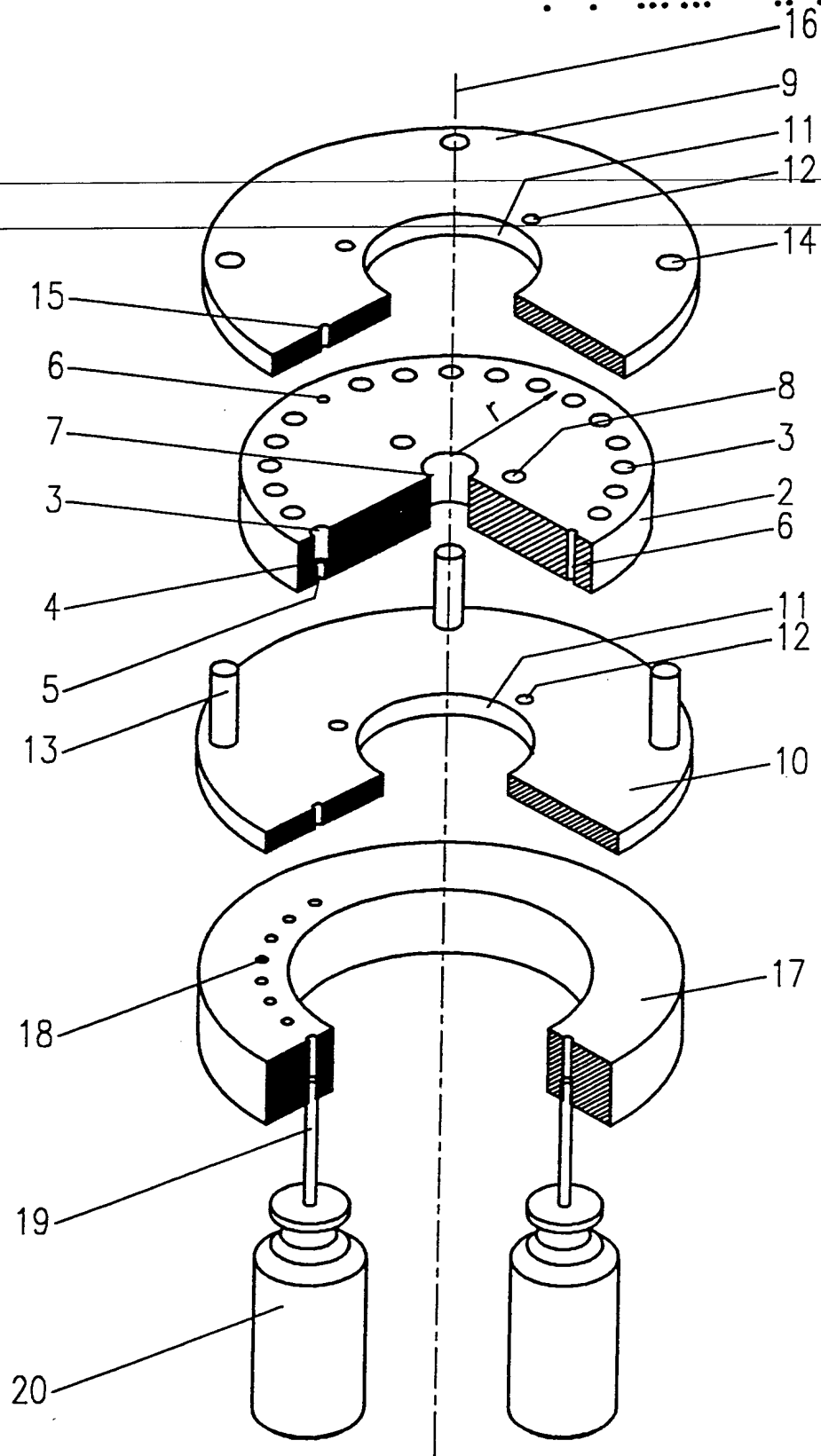


Fig.1

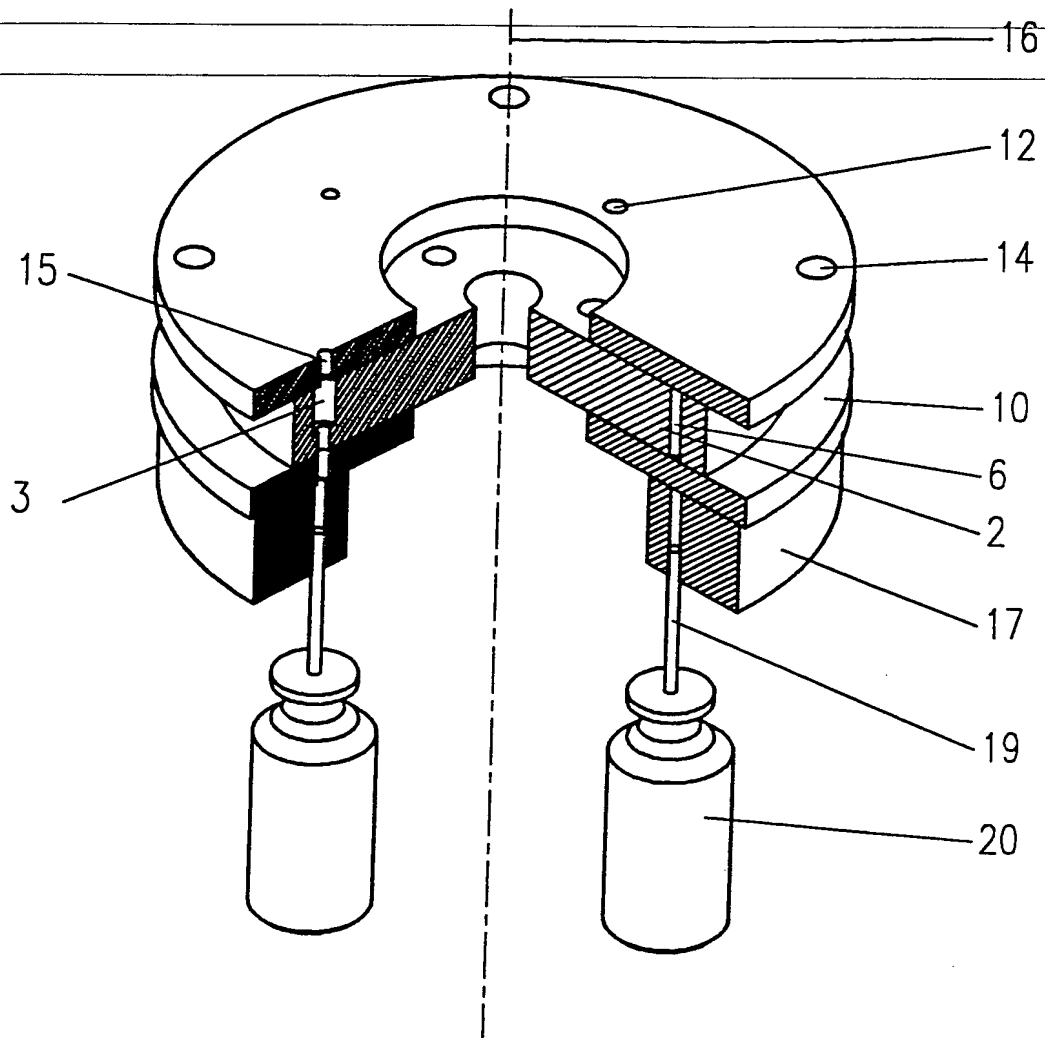


Fig. 2



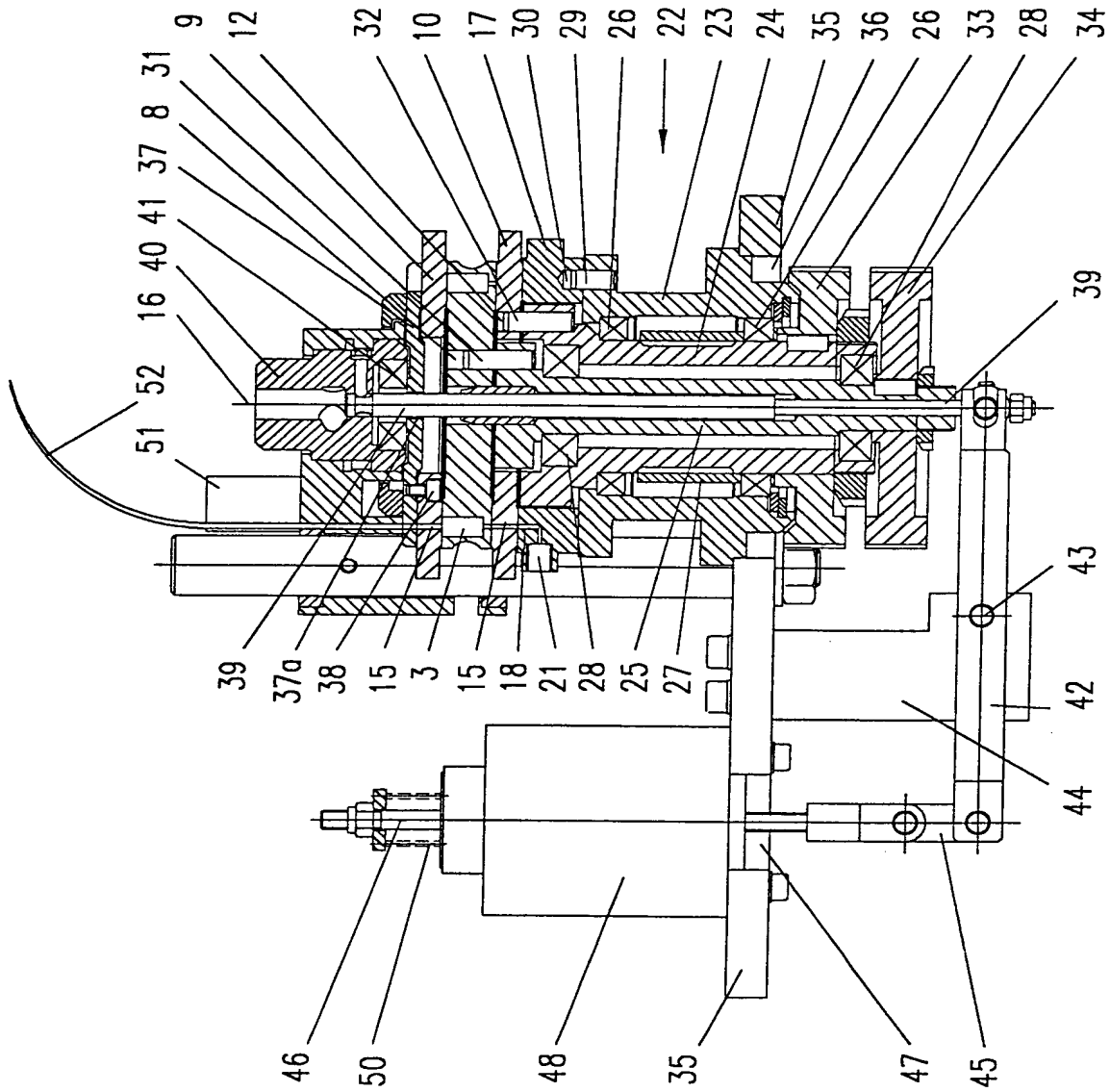


Fig. 3

DE-1627

30. Dezember 1998

5 MWG-Biotech GmbH

10

**Zusammenfassung**

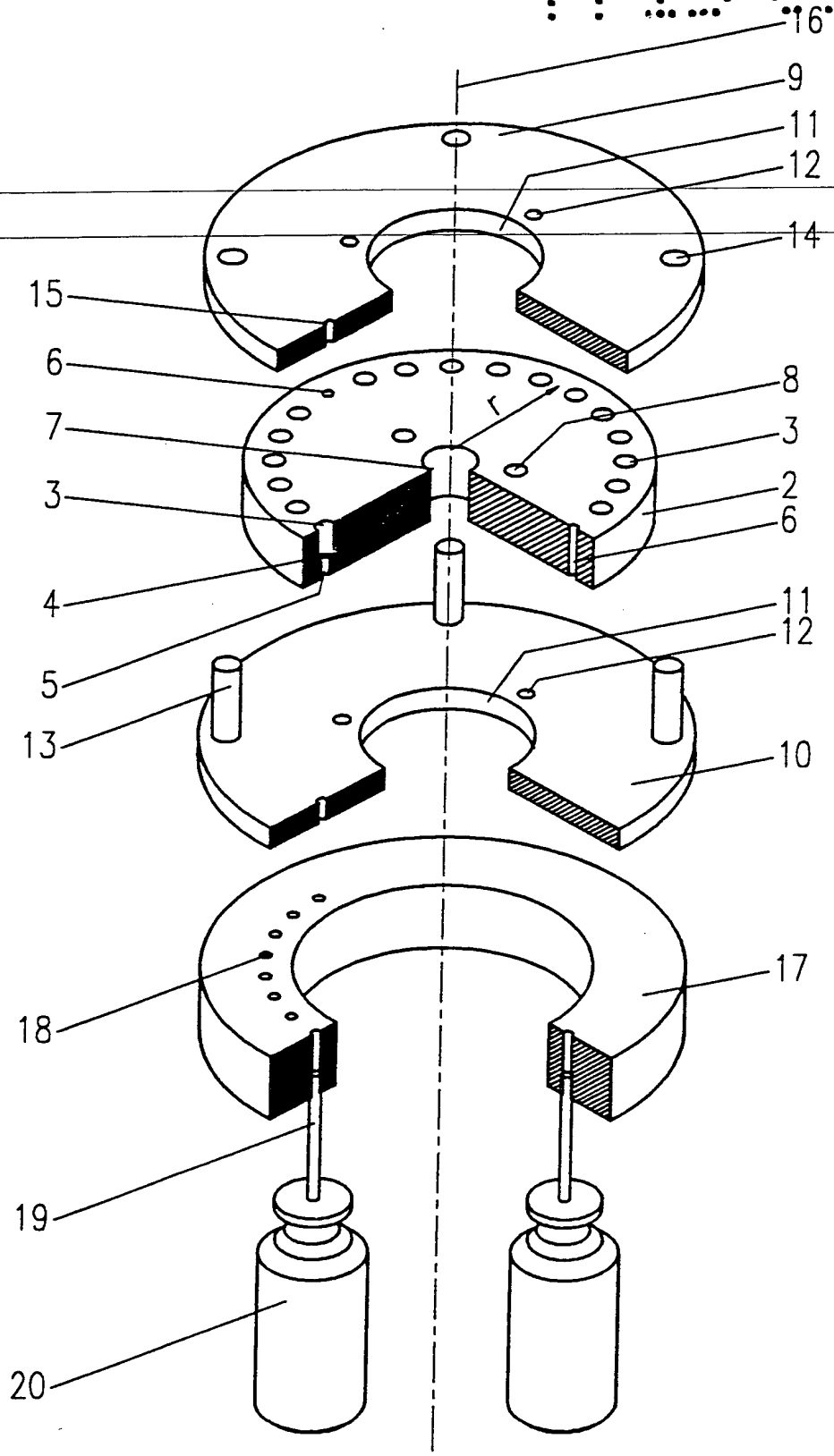
Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Durchführen von chemischen Reaktionen, mit

- einem Reaktionsslider, in dem eine Vielzahl als Reaktionskammern dienende Durchgangsöffnungen ausgebildet sind,
- zwei Wahlslidern, die jeweils an einer Seite des Reaktionssliders, an der die Reaktionskammern münden, angeordnet sind und die jeweils zumindest eine durchgehende Steueröffnung aufweisen, wobei die Wahlslider bezüglich des Reaktionssliders derart verlagerbar sind, daß sich deren Steueröffnungen in fluchtender Anordnung mit einer der Reaktionskammern des Reaktionssliders befinden, so daß eine durchgehende Verbindung zur Versorgung der Reaktionskammer mit einer vorbestimmten Reagenz geschaffen wird.

Die Erfindung zeichnet sich dadurch aus, daß die Reaktionskammern des Reaktionssliders entlang einer Kreisbahn am Reaktionsslider angeordnet sind und der Reaktionsslider und der Wahlslider durch Drehen um eine gemeinsame Achse, die durch den Mittelpunkt der Kreisbahn geht, verlagerbar sind.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist trotz einer großen Anzahl von Reaktionsgefäßen einfach und kompakt ausgebildet. Sie kann zudem sehr zuverlässig und verschleißarm betrieben werden.

14 15 02 00





1  
2  
3  
4

5  
6  
7  
8

